

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 09257701
PUBLICATION DATE : 03-10-97

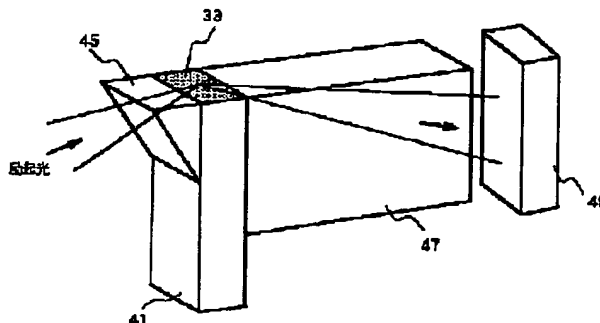
APPLICATION DATE : 21-03-96
APPLICATION NUMBER : 08064016

APPLICANT : TOTO LTD;

INVENTOR : OSADA TAIJI;

INT.CL. : G01N 21/27 G01N 33/53

TITLE : SURFACE PLASMON RESONANCE
SENSOR



ABSTRACT : PROBLEM TO BE SOLVED: To make a surface plasmon resonance sensor, which is used for detection of antigen-antibody reaction, fit for use whose many samples are processed in a short time at clinical inspection, etc.

SOLUTION: A non-returnable detecting piece 41 is constituted in such a way where a silver thin film 33 of a thickness about 50nm is vapor-deposited on the tip surface of a bar-shaped body of glass or acrylic whose diameter is about 1mm, and an antibody is fixed to the surface of silver thin film 33. After the silver thin film 33 part of the detecting piece 41 is soaked in a sample solution so that antigen-antibody reaction is caused, the detecting piece 41 is inserted into an optical system comprising a prism 45 of a surface plasmon resonance sensor device and a light transmission plate 47, etc., and inspection is performed while excitation light is applied. After the inspection is finished, the detecting piece 41 is detached and dumped.

COPYRIGHT: (C)1997,JPO

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-257701

(43)公開日 平成9年(1997)10月3日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 21/27 33/53			G 0 1 N 21/27 33/53	C T

審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 6 頁)

(21)出願番号 特願平8-64016

(22)出願日 平成8年(1996)3月21日

(71)出願人 000010087

東陶機器株式会社

福岡県北九州市小倉北区中島2丁目1番1号

(72)発明者 内山 兼一

福岡県北九州市小倉北区中島2丁目1番1号 東陶機器株式会社内

(72)発明者 長田 泰二

福岡県北九州市小倉北区中島2丁目1番1号 東陶機器株式会社内

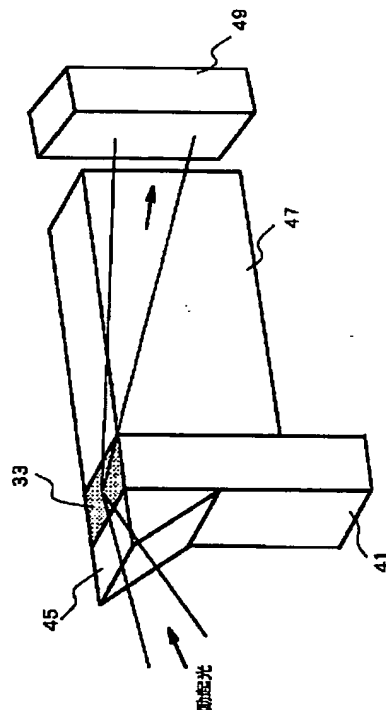
(74)代理人 弁理士 上村 輝之 (外1名)

(54)【発明の名称】 表面プラズモン共鳴センサ

(57)【要約】

【課題】 抗原抗体反応の検知に用いる表面プラズモン共鳴センサにおいて、臨床検査などで多くの試料を短時間で処理する用途に適するようにする。

【解決手段】 ガラスやアクリル製の直径1mm程度の棒状体の先端面に、銀薄膜33を厚さ50nm程度に蒸着し、この銀薄膜33の表面上に抗体を固定したものを、使い捨ての検知ピース41とする。この検知ピース41の銀薄膜33の部分を試料溶液に浸して抗原抗体反応を生じさせた後、この検知ピース41を表面プラズモン共鳴センサ装置のプリズム45及び導光板47などからなる光学系内に挿入して、励起光を当てて検査を行なう。検査終了後、検知ピース41は取り外され廃棄される。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 表面プラズモン共鳴を起こすための金属薄膜を有した光反射面をもつ検知ピースと、
前記光反射面に励起光を送るための光源と、
前記光反射面からの反射光を受けるための受光センサと、
前記検知ピースを交換可能な状態で固定する固定手段と、
を備えたことを特徴とする表面プラズモン共鳴センサ。

【請求項2】 請求項1記載の表面プラズモン共鳴センサにおいて、
前記金属薄膜が銀薄膜であることを特徴とする表面プラズモン共鳴センサ。

【請求項3】 請求項1記載の表面プラズモン共鳴センサにおいて、
前記検知ピースが棒状の全体形状を有し、この棒状の検知ピースの少なくとも一つの端部に前記光反射面を有することを特徴とする表面プラズモン共鳴センサ。

【請求項4】 請求項3記載の表面プラズモン共鳴センサにおいて、
前記固定手段が、前記棒状の検知ピースが挿入されるための穴をもつプリズムを有し、このプリズムが励起光を前記検知ピースに導くことを特徴とする表面プラズモン共鳴センサ。

【請求項5】 請求項3記載の表面プラズモン共鳴センサにおいて、
前記固定手段が、前記棒状の検知ピースを挟むためのプリズムと導光板とを有し、前記プリズムが励起光を前記検知ピースに導き、前記導光板が反射光を伝送することを特徴とする表面プラズモン共鳴センサ。

【請求項6】 請求項5記載の表面プラズモン共鳴センサにおいて、
前記プリズムと前記検知ピースと前記導光板の組合せを複数セット備えることを特徴とするマルチチャネル型の表面プラズモン共鳴センサ。

【請求項7】 表面プラズモン共鳴センサで用いられる、表面プラズモン共鳴を起こすための金属薄膜を有した光反射面をもつ検知ピースにおいて、
棒状の全体形状を有し、少なくとも一つの端部に前記光反射面を有することを特徴とする表面プラズモン共鳴センサ用の検知ピース。

【請求項8】 請求項7記載の検知ピースにおいて、
前記金属薄膜が銀薄膜であることを特徴とする表面プラズモン共鳴センサ用の検知ピース。

【請求項9】 請求項7記載の検知ピースにおいて、
前記金属薄膜を有する端部の近傍に、表面プラズモン波を励起するための励起光を前記光反射面に導くためのプリズムを有することを特徴とする表面プラズモン共鳴センサ用の検知ピース。

【請求項10】 請求項7記載の検知ピースにおいて、

前記金属薄膜を囲うような試料皿を有することを特徴とする表面プラズモン共鳴センサ用の検知ピース。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、表面プラズモン共鳴現象を利用した表面プラズモン共鳴センサに関わり、特に、抗原抗体反応を検出するバイオセンサなどに好適な表面プラズモン共鳴センサに関する。

【0002】

【従来の技術】ガラス等の表面に金属の薄膜を形成し、ガラスを透してこの金属面にp偏光された励起光を全反射条件で照射すると、特定の入射角のときに金属薄膜に表面プラズモン共鳴が起きる。表面プラズモン共鳴が励起されると、金属膜上のプラズモン波に光エネルギーが吸収されるため、励起光の金属膜での反射率が低下する。反射率の極小点に対応する入射角はプラズモン共振角と呼ばれる。プラズモン共振角は金属薄膜に接している物質の誘電率によって変化するから、これを測定することにより金属薄膜上の物質を検知することが出来る。この原理を利用して試料内の特定物質を検出するセンサが表面プラズモン共鳴センサである。

【0003】横軸に励起光の入射角、縦軸に反射率をプロットした曲線は共振カーブと呼ばれる。共振カーブは金属薄膜に用いる金属によって異なる。実用的な金属は金又は銀であるが、金薄膜より銀薄膜の方がより鋭い極小ピークをもつ共振カーブを得ることが出来る。鋭い極小ピークの方がプラズモン共振角を決定しやすいから、測定精度の点では金より銀の方が優れている。しかし、耐腐食性の点では金の方が遥かに優れているから、従来の表面プラズモン共鳴センサでは金が用いられる。

【0004】表面プラズモン共鳴センサの典型的な用途の一つは、生体物質を検出するためのバイオセンサである。例えば、金属薄膜上に特定の抗体を固定して血液や尿などの試料に接触させると、試料内に存在する特定の抗原がその抗体に吸着され、金属膜上の誘電率が変化するから、プラズモン共振角が変化する。この変化を検出して抗原の吸着量を算出することが出来る。

【0005】図1は、従来からこの種の用途に用いられている表面プラズモン共鳴センサの概略構造図である。プリズム1と同じ屈折率をもつガラス板3の光反射面には、表面プラズモン共鳴を起こさせるために約50nmの厚さの金薄膜5が蒸着されている。金薄膜5の上にはLB膜等を介して、特定の抗原が特異的に吸着する抗体が固定化されている。ガラス板3とプリズム1との界面には光の反射を防ぐためにマッチングオイルが塗られ、両者は機械的に押しつけて密着されている。

【0006】さらに、ガラス板3の上には試料を流すためのセル7が固定されており、このセル7内に金薄膜5が露出している。そして、矢印で示すように、試料溶液がセル7内に送り込まれると、試料溶液中に分散してい

る特定の抗原が金薄膜上の抗体と抗原抗体反応を起こして抗体上に吸着され、抗原の吸着に伴い金薄膜上表面の誘電率が変化する。そこで、この抗原抗体反応の前と後に励起光を図示のようにガラス板3の光反射面に入射し、それぞれの時のプラズモン共振角を測定することにより、抗原抗体反応による共振角の変化が測定され抗原の吸着量が算出される。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】この従来装置では、金薄膜上の抗体に一旦吸着した抗原は、測定後に酸性溶液などで洗浄されて抗体から解離され、それにより抗体が再生され次の測定に再利用される。しかし、このように測定毎に洗浄しなければならないため、短時間に多くのサンプルを処理する様な用途には従来装置は適していない。

【0008】そこで、臨床検査の現場では、抗原抗体反応を利用した測定法として免疫比濁法が好んで行われている。これはラテックスの微粒子や金コロイドの粒子に抗体を付着させた試薬と試料溶液中の抗原とを反応させることにより、微粒子同志が凝集して光が散乱する現象を利用したものである。しかし、この免疫比濁法では、試薬と試料溶液を正確に計量し混合してその濁度を測定する為、正確に溶液を計量するための付加機構が必要である。

【0009】また、前述したように、金薄膜よりも銀薄膜を使用した方が鋭い極小ピークをもつ共振カーブが得られて共振角の変化が測定しやすい。しかし、銀は洗浄用の酸性液に弱いので使用することができず、よって、銀より測定精度が劣り且つ高価な金を使用せざるを得ない。

【0010】更に、従来装置は試料溶液を流すためのセルが不可欠である。しかも、セルの構成には試料溶液の流し方等の微妙なノウハウが要求され、また、試料溶液をセルまで送液するための付加機構も必要である。

【0011】従って、本発明は、臨床検査などで多くのサンプルを短時間に処理する用途に適した表面プラズモン共鳴センサを提供することを目的とする。

【0012】本発明はまた、測定精度において優れた銀薄膜を使用することができ、表面プラズモン共鳴センサを提供することを目的とする。

【0013】本発明は更に、試料溶液を流すための付加機構が不要な表面プラズモン共鳴センサを提供することを目的とする。

【0014】

【課題を解決するための手段】本発明の表面プラズモン共鳴センサは、表面プラズモン共鳴を起こす金属薄膜を光反射面に有した透明材料製の検知ピースを備え、この検知ピースが交換可能のように取付けられていることを特徴とする。

【0015】各測定毎に検知ピースを交換できるので、

従来装置のような洗浄が必要なく、検査の能率が向上する。また、洗浄が必要ないため、金属薄膜には金でなく銀の薄膜を用いることができるようになり、銀薄膜を用いれば測定の精度が向上する。検知ピースは使い捨てにできるので、細菌やウィルスを検査する用途には適している。

【0016】検知ピースは望ましくは棒状の形に作り、その一端部又は両端部に光反射面を設ける。棒状のものは把持し易いので、センサ装置に装着したり取り外したりする時の操作が容易である。また、端部に光反射面があれば、試料溶液と接触させる操作も、端部だけを試料溶液に浸せばよいので容易である。

【0017】棒状の検知ピースを交換容易な形態でセンサに取付けるための構成には幾つものバリエーションがあり得る。好適な一実施形態では、励起光を検知ピースに導くためのプリズムに穴を設け、その穴に棒状の検知ピースを挿入する。また、別の実施形態では、検知ピースをプリズムと導光板との間に挟み込む。これ以外にも種々の態様が存在し得る。

【0018】検知ピースは、円柱や角柱のような単純な棒状体であってもよいし、これにプリズムを一体化したものでもよいし、更には、試料を入れる試料皿を付加してもよい。

【0019】測定に必要な金属薄膜の面積は微小であるから、それに合せて検知ピースも小さく作ることが出来る。例えば、マッチ棒やヨウジ程度のサイズ又はそれ以下のサイズにすることができる。このような小サイズの検知ピースは、そのコストは小さいから使い捨てに適しているし、また、装置の小型化にも貢献できる。

【0020】

【発明の実施の形態】以下、本発明の表面プラズモン共鳴センサの実施形態を図面を用いて詳細に説明する。

【0021】図2は、本発明第1の実施形態の表面プラズモン共鳴センサに使用する使い捨ての検知ピース21の側面図(a)及び斜視図(b)である。図に示すように、検知ピース21は、ガラス又はアクリル等の透明材料から成る円柱体11の一方の端面に銀薄膜13を形成し、この薄膜13上に図示しない特定の抗体を固定したものである。円柱体11は直径が1mm程度の小さいものであり、形状の単純さとサイズの小ささから量産が容易である。銀薄膜13は膜厚50nm程度に蒸着等によって形成される。

【0022】尚、円柱体の代わりに断面形状が三角形や多角形の角柱体を用いても良い。銀薄膜の代わりに金薄膜や銅薄膜を用いることもできるが、金薄膜は共振カーブの極小ピークがやや鈍く、銅薄膜は極小ピークは鋭いが空気中で酸化しやすい。検知ピース21は個々の測定毎に使い捨てられ測定後に洗浄する必要がないため、洗浄液に強い金薄膜を用いる必要がなく、よって、共振カーブの特性の良い銀薄膜を用いることが最も望ましい。

円柱体11の両側の端面に銀薄膜13を形成して、一本の検知ピースを二回の測定に使用可能としてもよい。

【0023】図3は、図1に示した検知ピース21を用いた表面プラズモン共鳴センサの概略構造を示す。検知ピース21は、あらかじめ銀薄膜13の部分を一定時間試料溶液に浸し、銀薄膜13上に固定した抗体と試料溶液中の抗原とで抗原抗体反応を起こさせて抗原を吸着させた後、吸着した抗原以外の残余の試料溶液をバッファ液などで洗浄して除去しておく。

【0024】このように前準備がなされた検知ピース21が、その側面にマッティングオイルを塗られてから、図示のように台形型のプリズム25の中央部に設けられた貫通穴に挿入される。貫通穴の形状は検知ピース21にフィットしており、プリズム25の屈折率は検知ピース21のそれと全く同じである。従って、検知ピース21とプリズム25とは光学的に一体化する。

【0025】図示しない光源からの励起光がプリズム25を通して検知ピース21に入射される。この励起光は、図示のように、検知ピース21の銀薄膜13を有する端面（以下、光反射面という）に焦点を結ぶ「くさび」状の光線束であって、全反射する範囲内の入射角で光反射面に入射する。この励起光は光反射面で反射し、図示のように「逆くさび」状の反射光線束となって、プリズム25を通して受光センサ27に受け取られる。受光センサ27はラインCCDセンサであって、その出力信号は反射光線束の入射角に応じた反射率分布つまり共振カーブを表している。この受光センサ27の出力信号から、抗原吸着後のプラズモン共振角が決定される。

【0026】検知ピース21の品質ばらつきが少ない場合は、抗原を吸着する前のプラズモン共振角が予め判明しているので、抗原吸着後の共振角より抗原の吸着量を算出することが出来る。一方、品質ばらつきがある場合は、抗原吸着前にもプラズモン共振角を測定して、抗原吸着前後間の共振角の変化を求めて、この変化から抗原の吸着量を算出することができる。

【0027】測定が終わった後、検知ピース21はプリズム25より抜き取られて廃棄される。なお、両端面に銀薄膜を設けた検知ピースは、方向を変えて2回目の測定に用いることが出来る。いずれにしても、検知ピース21を洗浄する必要がなく、単純に交換するだけで次の測定が行なえるので、作業能率が向上し、臨床現場において多くのサンプルを短時間に処理するのに好適である。また、洗浄の必要がないことから共振カーブ特性に優れた銀薄膜を使うことが出来るので、測定精度が高い。また、検知ピースの廃棄場所を適切に管理しさえすれば、検知ピースに付着した細菌やウイルスが環境に及ぼす影響を配慮する必要がない。更に、従来装置に必要なセルや、免疫比濁法に必要な精密な計量装置や試薬が不要であるから、コストメリットがある。検知ピースは小さく抗体の使用量が少ないので、使い捨てとしても、

コストメリットを損なわない。

【0028】図4は、本発明の第2の実施形態の表面プラズモン共鳴センサに使用する検知ピース41の外観図である。この検知ピース41は、ガラス又はアクリル製の一边が1mm程度の四角柱体31の一方の端面に、銀薄膜33を膜厚50nm程度に蒸着し、銀薄膜33表面に特定の抗体を固定したものである。尚、両端面に銀薄膜33を形成しても良い。

【0029】図5は、図4に示した検知ピース41を用いた表面プラズモン共鳴センサの概略構造図である。図に示すように、検知ピース41が、これと同じ屈折率をもつ三角プリズム45と導光板47との間に挟み込まれる。プリズム45と導光板47は互いの間隔を広げたり狭めたりするようにスライドでき、その間隔を広げた状態で検知ピース41を両者の間に入れ、そして、間隔を狭めるように両者をスライドすることにより、図示のように検知ピース41の両側面に密着される。プリズム45と検知ピース41と導光板47は、マッティングオイルを介して密着されるので、光学的に一体化する。

【0030】図示しない光源からの「くさび」状の励起光線束が、プリズム41を通過して検知ピース41の光反射面に全反射条件で入射する。そして、この励起光線束は、銀薄膜33で生じた表面プラズモン共鳴に伴う反射率をもって反射し、「逆くさび」状に広がる反射光線束となって導光板47を通過して受光センサ49に受け取られる。測定後は、プリズム45と導光板47がスライドされてその間隔が開かれ、検知ピース41が取り外されて廃棄される。

【0031】この実施形態の、プリズム45と導光板47をスライドさせて検知ピース41を挟み込むという動きは、自動機の機構に採用するのに好適である。

【0032】図6は、本発明の表面プラズモン共鳴センサの第3の実施形態を示す。この実施形態は、図5に示した表面プラズモン共鳴センサを複数セット積層するように並べて密着させて、マルチチャネル型にしたものである。図5に示した表面プラズモン共鳴センサが形状において薄板形であるため、図6に示すように、それと同じものを複数セットを積層してマルチチャネル型としても、全体としてコンパクトに纏まる。

【0033】マルチチャネル型センサの用途の一つは、複数の試料又は複数の検出対象の同時的な測定や比較検査である。また、一方の銀薄膜33Aには活性のある抗体を固定し、他方の銀薄膜33Bには非活性な抗体を固定することにより、非活性な方で測った共振角をリファレンス値として用いて、活性な方で測った共振角の温度変動による誤差を補正することができる。

【0034】図7は、本発明の第4の実施形態で用いる使い捨ての検知ピースを示す。この検知ピースは、ガラスやアクリル等の透明材料を切削加工又はインジェクション成形などの方法で、棒状部分71とプリズム部分7

3とが一体化した形状体を作り、そのプリズム部分73の光反射面上に銀薄膜75を蒸着したものである。測定の際には、棒状部分71が人の手や自動機のチャックによって把持され、そして、プリズム部分73がセンサ内の光源からの励起を受ける位置にセットされる。測定が終わると、この検知ピースはセンサから取り外されて廃棄される。尚、棒状部分71は透明である必要はないので、プリズム部分73とは別の材料でも構わない。

【0035】図8は、本発明の第5の実施形態で用いる使い捨ての検知ピースを示す。この検知ピースは、図7に示したものと同様の棒状部分71とプリズム部分73とが一体化した形状体を用意し、そのプリズム部分73の先端に試料を入れるための試料皿77を接着し、この試料皿77の底面に銀薄膜75を蒸着し、この銀薄膜75の表面に抗体を固定したものである。試料皿77の少なくともその底板部分は、プリズム部分73と同じ透明材料である。試料皿77と棒状部分71とプリズム部分73とを一体成形することもできる。また、図7に示した検知ピースを用意し、そのプリズム部分73の光反射面の周囲に囲い板を取付けることにより、試料皿77を形成することもできる。

【0036】尚、上述の説明は、抗原を検知することを前提に行なったが、抗体を検知することも勿論可能であり、その場合は抗原を銀薄膜に固定する。また、抗原抗体反応だけでなく、他の種々の対象物の検知にも本発明のセンサは利用可能である。また、本発明のセンサは検知ピースを使い捨てることができるが、必ずしも使い捨てなければならないわけではない。金の薄膜を使用した場合は、洗浄して再使用することもできる。

【0037】

【発明の効果】以上説明したように、本発明の表面プラズモン共鳴センサは、検知ピースを測定の都度交換できるので、臨床現場等で多量のサンプルを短時間で測定処

理する用途に適している。また、使い捨てとすれば、銀薄膜を使用できるので、測定精度を高めることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】従来の表面プラズモン共鳴センサの概略構造を示す図。

【図2】本発明の第1の実施形態の表面プラズモン共鳴センサに使用する検知ピースを示す側面図(a)及び斜視図(b)。

【図3】図2に示した検知ピースを用いた第1の実施形態の概略構造を示す斜視図。

【図4】本発明の第2の実施形態に使用する検知ピースを示す斜視図。

【図5】図4に示した検知ピースを用いた第2の実施形態の表面プラズモン共鳴センサの概略構造を示す斜視図。

【図6】本発明の第3の実施形態のマルチチャネル型表面プラズモン共鳴センサの概略構造を示す斜視図。

【図7】本発明の第4の実施形態で用いる検知ピースを示す斜視図。

【図8】本発明の第5の実施形態で用いる検知ピースを示す断面図。

【符号の説明】

25、45、59、61 プリズム

11 円柱体

13、33、75 銀薄膜

21、41、51、53 検知ピース

27、49、67、69 受光センサ

31 四角柱体

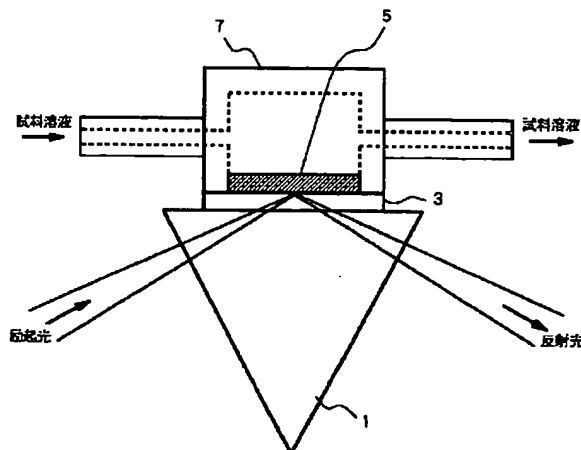
47、47A、47B 導光板

71 棒状部分

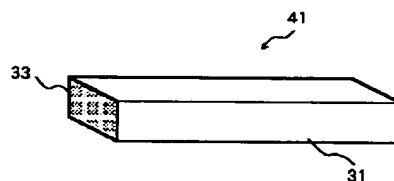
73 プリズム部分

77 試料皿

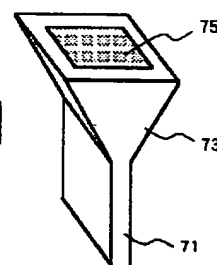
【図1】



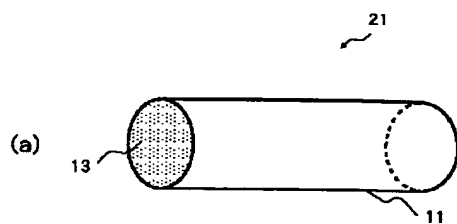
【図4】



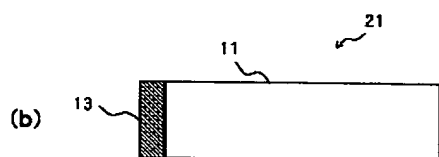
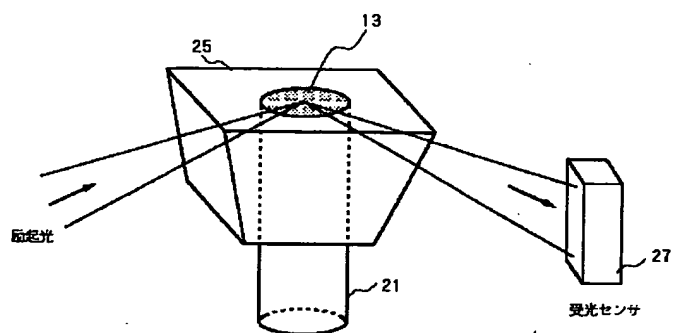
【図7】



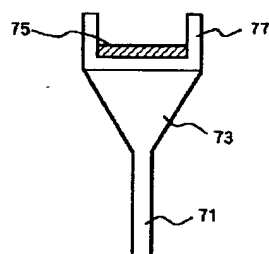
【図2】



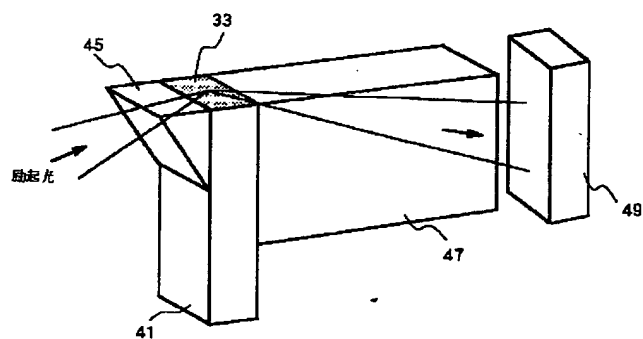
【図3】



【図8】



【図5】



【図6】

